

Terapie cellulari

Le potenzialità terapeutiche delle Cellule Staminali Mesenchimali



Prof.ssa Franca Fagioli

Laboratorio Centri Trapianti Cellule Staminali e Terapia Cellulare

Oncoematologia Pediatrica, Città della Salute e della Scienza di Torino

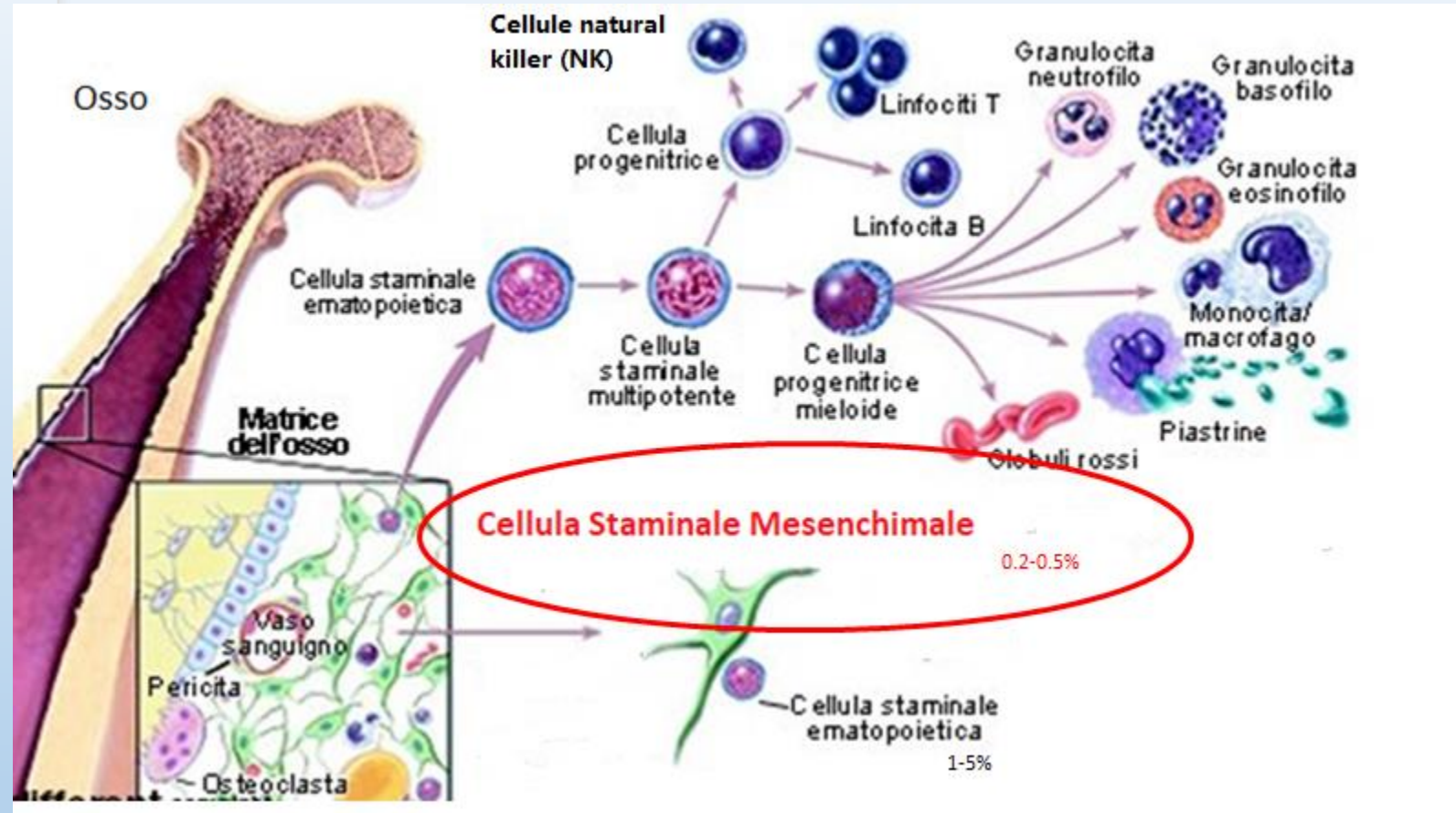
Dipartimento di Scienze della Sanità Pubblica e Pediatriche

Università degli Studi di Torino

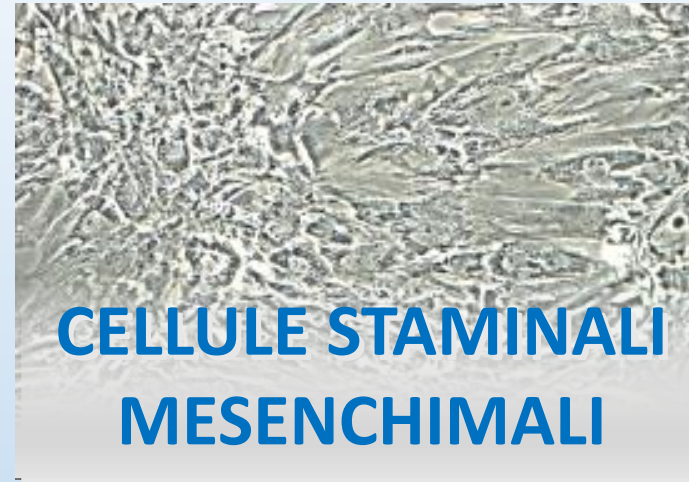


Nel midollo osseo: cellule staminali emopoietiche e.....

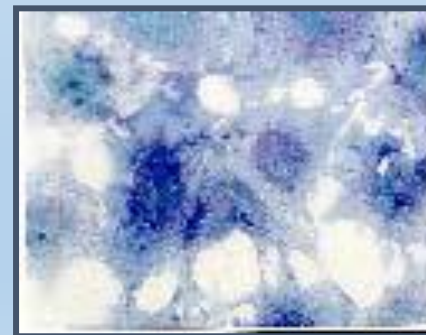
- Pittenger MF et al, **Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells**, Science 1999



CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI (CSM) da midollo osseo



Osteoblasti



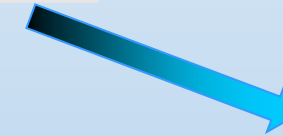
OSSO



Adipociti



GRASSO



Condrociti



CARTILAGINE

Isolation of human mesenchymal stem cells: bone marrow versus umbilical cord blood

Mareschi et al

haematologica 2001;

Studio delle capacità differenziative e immunomodulanti delle CSM

ELSEVIER
Experimental Hematology 34 (2006) 1563–1572
Neural differentiation of human mesenchymal stem cells: evidence for expression of neural markers and eag K⁺ channel types
Katia Mareschi^a, Monica Novara^b, Deborah Rustichelli^a, Ivana Ferrero^a, Daniela Guido^b, Emilio Carbone^b, Enzo Medico^c, Enrico Madon^a, Alessandro Vercelli^d, and Franca Fagioli^a

Journal of Cellular Biochemistry 97:744–754 (2006)
Expansion of Mesenchymal Stem Cells Isolated From Pediatric and Adult Donor Bone Marrow
Katia Mareschi,^{1*} Ivana Ferrero,¹ Deborah Rustichelli,¹ Simona Aschero,¹ Loretta Gammaitoni,² Massimo Aglietta,² Enrico Madon,¹ and Franca Fagioli¹

CYTOTHERAPY
www.informaworld.com/cytotherapy
Multipotent mesenchymal stem cells from amniotic fluid originate neural precursors with functional voltage-gated sodium channels
Katia Mareschi^{ab}; Deborah Rustichelli^a; Valentina Comunanza^c; Roberta De Fazio^d; Cristina Cravero^a; Giulia Morterra^a; Barbara Martinoglio^d; Enzo Medico^e; Emilio Carbone^c; Chiara Benedetto^d; Franca Fagioli^a

ELSEVIER
Experimental Hematology 2016;44:138–150
Immunoregulatory effects on T lymphocytes by human mesenchymal stromal cells isolated from bone marrow, amniotic fluid, and placenta
Katia Mareschi^{a,b}, Sara Castiglia^a, Fiorella Sanavio^a, Deborah Rustichelli^a, Michela Muraro^a, Davide Defedele^c, Massimiliano Bergallo^b, and Franca Fagioli^a



STUDI PRECLINI in Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA)



- Differenziazione in cellule simil-neuronali
- Espressione di marcatori neuronali
- Espressione di canali del potassio tipici delle cellule neuronali

*K. Mareschi, M Novara, D. Rustichelli, I. Ferrero, D. Guido, E. Carbone, E. Medico, E. Madon, A. Vercelli, F. Fagioli.
Neural differentiation of human mesenchymal stem cell evidence for expression of neural markers and eag K⁺ channel types.
Experimental Haematology 34 (2006) 1563-1572*

- Sopravvivenza a lungo termine
- Migrazione
- Effetto neuroprotettivo
- Differenziazione ?

*A. Vercelli, OM Mereuta, D. Garbossa, G. Muraca, K. Mareschi, D. Rustichelli, I. Ferrero, L. Mazzini, E. Madon, F. Fagioli
Human mesenchymal stem cell transplantation extends survival, improves motor performance and decreases neuroinflammation in mouse model of amyotrophic lateral sclerosis.
Neurobiology of disease 31 (2008) 395-405*

Strategia terapeutica in SLA



Utilizzo CSM autologhe in pazienti con Sclerosi Laterale Amiotrofica



Studio 1: Codice ISS 82
Data protocollo: 24/10/2001
Numero: 12947/29.3

Studio 2: Codice ISS 61
Data protocollo: 25/09/2003
Numero: 16454

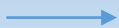
Obiettivo primario: Sicurezza e tossicità

1. Espianto di midollo osseo, isolamento ed espansione delle CSM
2. Impianto delle CSM nel midollo spinale dopo laminectomia mediana
3. Analisi degli eventi avversi

Obiettivo secondario: effetti clinici

1. Valutazione neurologica
2. Condizioni respiratorie

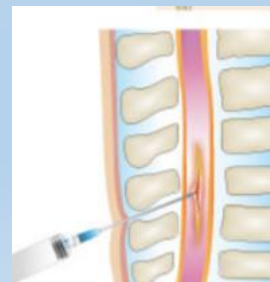
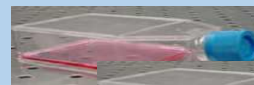
•Espianto di midollo osseo



•Stratificazione su gradiente Percoll



MSC medium con 10%FBS



Inoculo intrapinale

15-100 X 10⁶ cellule

Stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis: a methodological approach in humans

Letizia Mazzini,¹ Franca Fagioli,² Riccardo Boccaletti,³ Katia Mareschi,² Giuseppe Oliveri,³ Carlo Olivieri,⁴ Ilaria Pastore,⁵ Roberto Marasso⁵ and Enrico Madon²

Amyotrophic Lateral Sclerosis: What Goals for Cell Therapy?

Letizia Mazzini and Franca Fagioli*
Lucia Testa, Ivana Ferrero* and Katia Mareschi*
Department of Neurology, "Maggiore della Carità" Hospital,
University of Novara, Italy
*Department of Pediatrics, "Regina Margherita Children's Hospital",
University of Turin

Neurological Research, 2006, Volume 28, July 523

Autologous mesenchymal stem cells: clinical applications in amyotrophic lateral sclerosis

Letizia Mazzini*, Katia Mareschi[†], Ivana Ferrero[†], Elena Vassallo[†],
Giuseppe Oliveri[†], Riccardo Boccaletti[§], Lucia Testa*, Sergio Livigni[†] and
Franca Fagioli[†]

www.thelancet.com Vol 364 November 27, 2004

Stem-cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis

*Letizia Mazzini, Franca Fagioli,
Riccardo Boccaletti
mazzini.l@libero.it



ELSEVIER

Journal of the Neurological Sciences 265 (2008) 78–83

Journal of the
Neurological
Sciences

www.elsevier.com/locate/jns

Stem cell treatment in Amyotrophic Lateral Sclerosis

Letizia Mazzini^{a,*}, Katia Mareschi^b, Ivana Ferrero^b, Elena Vassallo^b, Giuseppe Oliveri^c,
Nicola Nasuelli^a, Gaia Donata Oggioni^a, Lucia Testa^a, Franca Fagioli^b

Amyotrophic Lateral Sclerosis. 2009; 10: 123–124

COMMENTARY

Mesenchymal stem cells for ALS patients

LETIZIA MAZZINI¹, ALESSANDRO VERCELLI², KATIA MARESCHI³,
IVANA FERRERO³, LUCIA TESTA¹ & FRANCA FAGIOLI³

Review

Expert
Opinion

Stem cells in amyotrophic lateral sclerosis: state of the art

Letizia Mazzini[†], Alessandro Vercelli, Ivana Ferrero, Katia Mareschi, Marina Boido,
Serena Servo, Gaia Donata Oggioni, Lucia Testa, Francesco Monaco &
Franca Fagioli

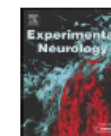


ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Experimental Neurology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/yexnr



Mesenchymal stem cell transplantation in amyotrophic lateral sclerosis: A Phase I clinical trial

L. Mazzini^{a,*}, I. Ferrero^{b,c}, V. Luparello^d, D. Rustichelli^b, M. Gunetti^b, K. Mareschi^{b,c}, L. Testa^a, A. Stecco^e,
R. Tarletti^a, M. Miglioretti^f, E. Fava^a, N. Nasuelli^a, C. Cisari^g, M. Massara^g, R. Vercelli^h, G.D. Oggioni^a,
A. Carriero^c, R. Cantello^a, F. Monaco^a, F. Fagioli^b





2001

2003

2005

2007-2012

2016-2018

2019

1° studio clinico
Studio ISS/82

2° studio clinico
Studio ISS/61

STOP

Lavori di
adeguamento GMP

7-9/09/2016
Verifica ispettiva

16/05/2018
Autorizzazione AIFA
aM 65/2018

16-20/09/2019
Verifica ispettiva
di mantenimento

08/11/2019
Autorizzazione AIFA
aM 147/2019



Adeguamento normativo
Decreto L.vo N. 211/2003
Direttiva 2004/23/CE
Decreto L.vo N.191/2007
Regolamento EU 1394/2007



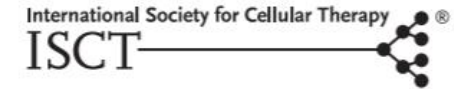
Laboratorio Centri Trapianti Cellule Staminali e Terapia Cellulare



Inactivated Platelet Lysate Supports the Proliferation and Immunomodulant Characteristics of Mesenchymal Stromal Cells in GMP Culture Conditions

by  Katia Mareschi^{1,2,*†} ,  Sara Castiglia^{2,†}  Aloe Adamir
 Elena Marini¹ ,  Alessia Giovanna Santa Banche Niclot¹  M.
 Luciana Labanca³ ,  Ivana Ferrero² and  Franca Fagioli^{1,2} 

Cytotherapy, 2014; 16: 750–763



Inactivated human platelet lysate with psoralen: a new perspective for mesenchymal stromal cell production in Good Manufacturing Practice conditions

SARA CASTIGLIA^{1,*}, KATIA MARESCHI^{1,2,*}, LUCIANA LABANCA³,
GRAZIELLA LUCANIA³, MARCO LEONE¹, FIORELLA SANAVIO¹, LAURA CASTELLO¹,
DEBORAH RUSTICHELLI¹, ELENA SIGNORINO¹, MONICA GUNETTI¹,
MASSIMILIANO BERGALLO², ANNA MARIA BORDIGA³, IVANA FERRERO^{1,2} &
FRANCA FAGIOLI¹

Research Article

Multipotent Mesenchymal Stromal Stem Cell Expansion by Plating Whole Bone Marrow at a Low Cellular Density: A More Advantageous Method for Clinical Use

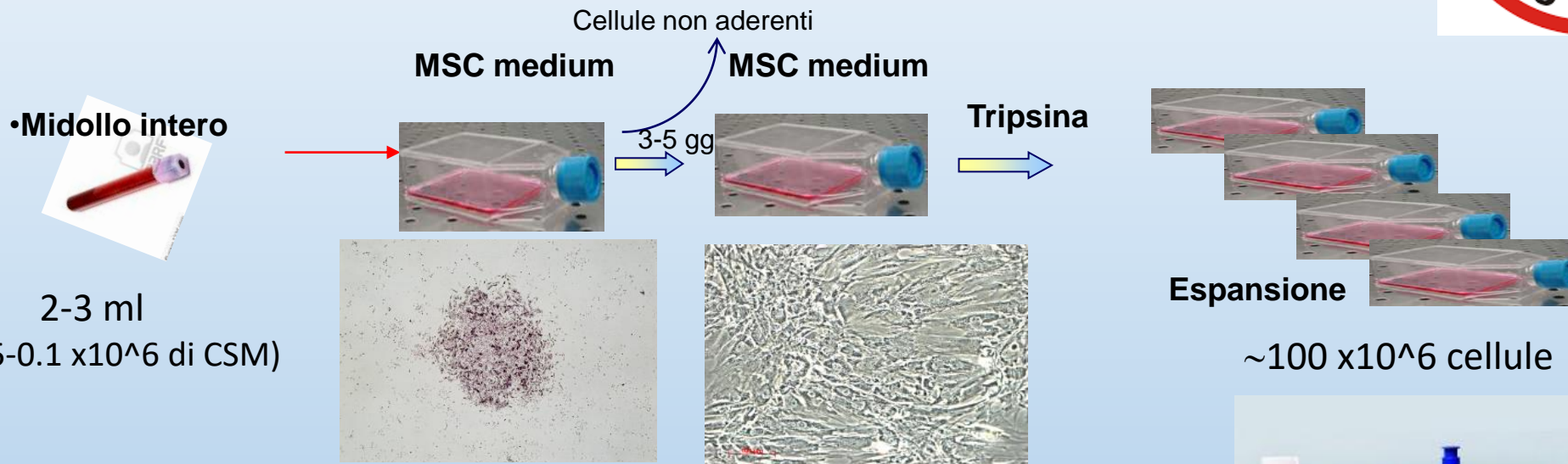
Katia Mareschi,^{1,2} **Deborah Rustichelli**,¹ **Roberto Calabrese**,²
Monica Gunetti,¹ **Fiorella Sanavio**,¹ **Sara Castiglia**,¹ **Alessandra Risso**,³
Ivana Ferrero,^{1,2} **Corrado Tarella**,³ and **Franca Fagioli**¹

¹ Stem Cell Transplantation and Cellular Therapy Unit, Pediatric Onco-Hematology Department.





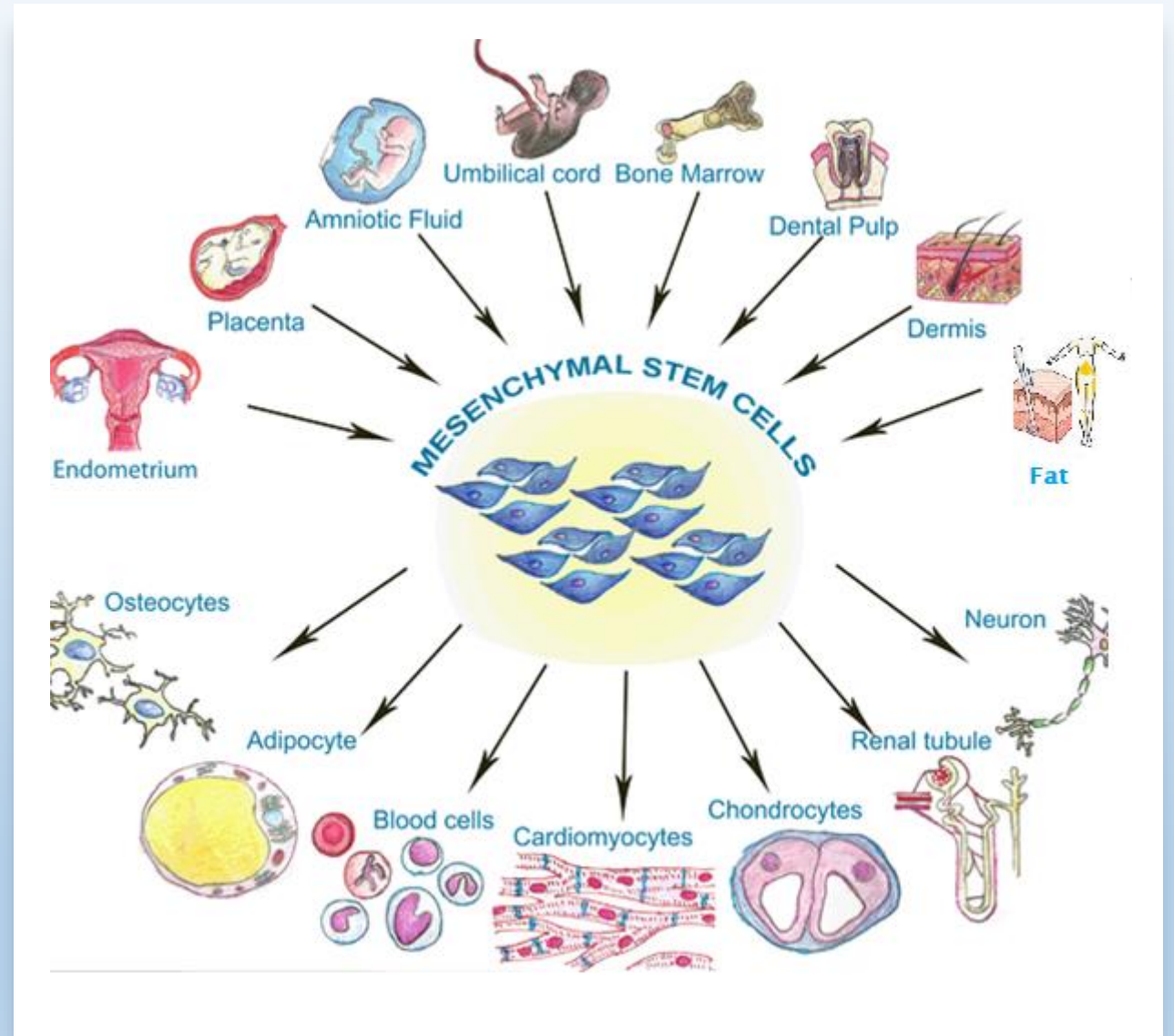
Isolamento Cellule Staminali Mesenchimali da midollo osseo



Espansione
1000 -2000x

- Agoaspirato midollare
- Uso di HPL umano e non siero animale
- Espansione su larga scala
- Controlli di qualità conformi alle GMP

CSM isolate da
diverse fonti e
diverse applicazioni
Cliniche



Macrin, D et I. *Stem Cell Rev and Rep* 2017.

Terapie miracolose a base di cellule, ma in realtà non sempre validate né autorizzate.

- **L'EMA mette in guardia sull'uso di terapie cellulari non validate**
- **Preoccupazione per gli annunci sul web di trattamenti spacciati come risolutivi e miracolosi**
- **Il rischio è di effetti collaterali gravi per terapie cellulari non validate scientificamente o non regolamentate**
- **Le terapie cellulari con CSM: un'opportunità per il trattamento di varie malattie, alcune incurabili**



10 prodotti di terapia avanzata a base di CSM registrati come farmaci

Chondrocytes-T-Ortho-ACI(EMA)	trattamento per i difetti sintomatici della cartilagine articolare delle articolazioni
Spherox (EMA)	contiene sferoidi (aggregati sferici) di condrociti per riparare i difetti della cartilagine del ginocchio negli adulti
Stempeucel (India)	per il trattamento dell'ischemia critica degli arti
Ossgrow (India)	usato per trattare la necrosi avascolare dell'articolazione dell'anca
Alofise (EMA)	CSM derivate da tessuto adiposo per il trattamento di fistole anali negli adulti con malattia di Crohn
Cupistem→ (Korea)	CSM autologhe di derivazione adiposa per il trattamento di fistole nel morbo di Chron
Neuronata-R (Korea)-	CSM autologhe di midollo osseo nel trattamento della sclerosi laterale amiotrofica
Cellgram-AMI(Korea)	per i trattamenti di infarto miocardico acuto.
Prochymal (Remestemcel-L) (Canada)	è una sospensione di CSM di terza parte pronta all'uso adulte coltivate ex vivo destinate all'infusione endovenosa. per la gestione della malattia da trapianto contro l'ospite acuta refrattaria (aGvHD)
Temcell HS (Japan)	primo prodotto medico rigenerativo allogenico giapponese per il trattamento della malattia acuta del trapianto contro l'ospite (GVHD acuta)

Cellule staminali mesenchimali isolate da endometrio



Mareschi et al, *work in progress*

Dalle biopsie di endometrio, la metodica di espansione in condizione GMP ha permesso di isolare

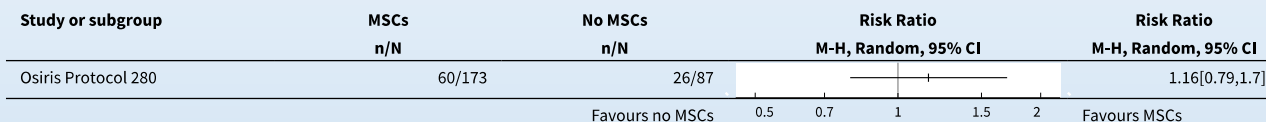
1. cellule staminali con le caratteristiche di CSM
2. L'espansione in vitro fino a 5 passaggi preservava le caratteristiche di staminalità senza modificazioni del cariotipo o inducendo tumorigenicità



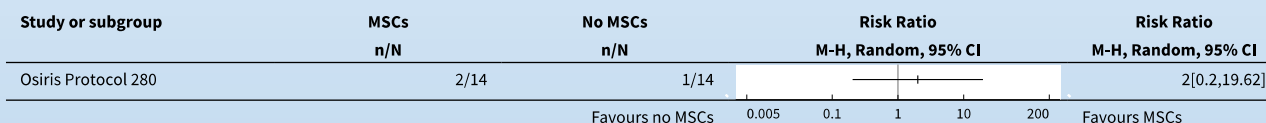
**Nuova prospettiva terapeutica per il trattamento dell'infertilità
donne con endometrio sottile**

Mesenchymal stromal cells as treatment or prophylaxis for acute or chronic graft-versus-host disease in haematopoietic stem cell transplant (HSCT) recipients with a haematological condition (Review)

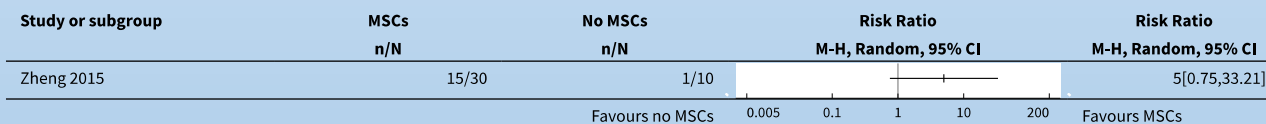
Analysis 1.6. Comparison 1 MSCs vs. control/placebo, Outcome 6 Acute GvHD complete response (therapeutic trials).



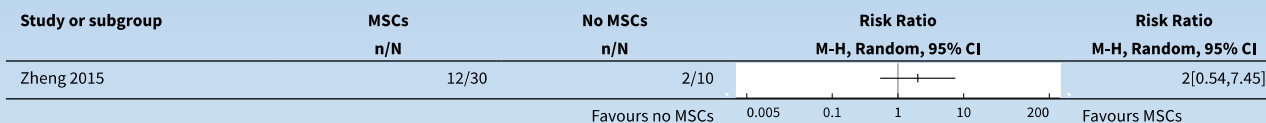
Analysis 1.7. Comparison 1 MSCs vs. control/placebo, Outcome 7 Acute GvHD partial response (therapeutic trials).



Analysis 1.8. Comparison 1 MSCs vs. control/placebo, Outcome 8 Chronic GvHD complete response (therapeutic trials).



Analysis 1.9. Comparison 1 MSCs vs. control/placebo, Outcome 9 Chronic GvHD partial response (therapeutic trials).



- Area di interesse in rapida espansione
- Numerosi reports con risultati positivi, soprattutto nel contesto della aGvHD
- Studi metodologicamente deboli



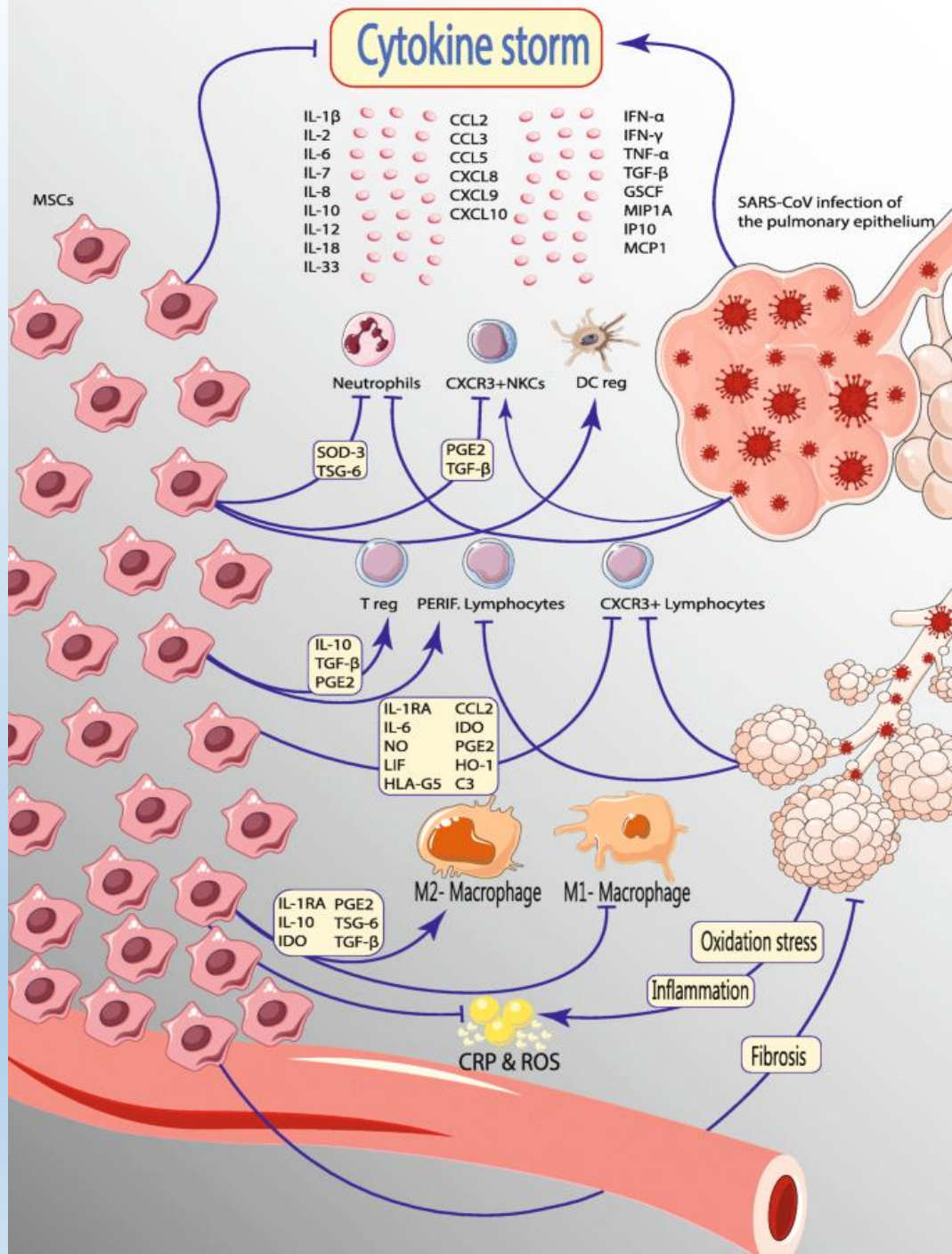
NECESSITA' di ULTERIORI STUDI

CSM nel trattamento del COVID-19

Un'inflammation così incontrollata causata da questa tempesta di citochine compromette la funzione polmonare e può portare a insufficienza d'organo seguita da edema, infezione secondaria, danno cardiaco e morte.



Le **potenti proprietà antinfiammatorie e immunomodulatorie** delle CSM e quindi possono anche controllare le tempeste di citochine inibendo l'iperattivazione del sistema immunitario e migliorando la riparazione endogena dei tessuti danneggiati



Trial number/identification	Condition or disease	Cell type used as an intervention	Phase
NCT04348435	COVID-19	Allogeneic AdMSCs	II
NCT04382547	COVID-19, viral pneumonia	Allogenic-pooled-olfactory mucosa-derived MSCs	I/II
NCT04349631	COVID-19	AT-MSCs (AdMSCs; autologous)	II

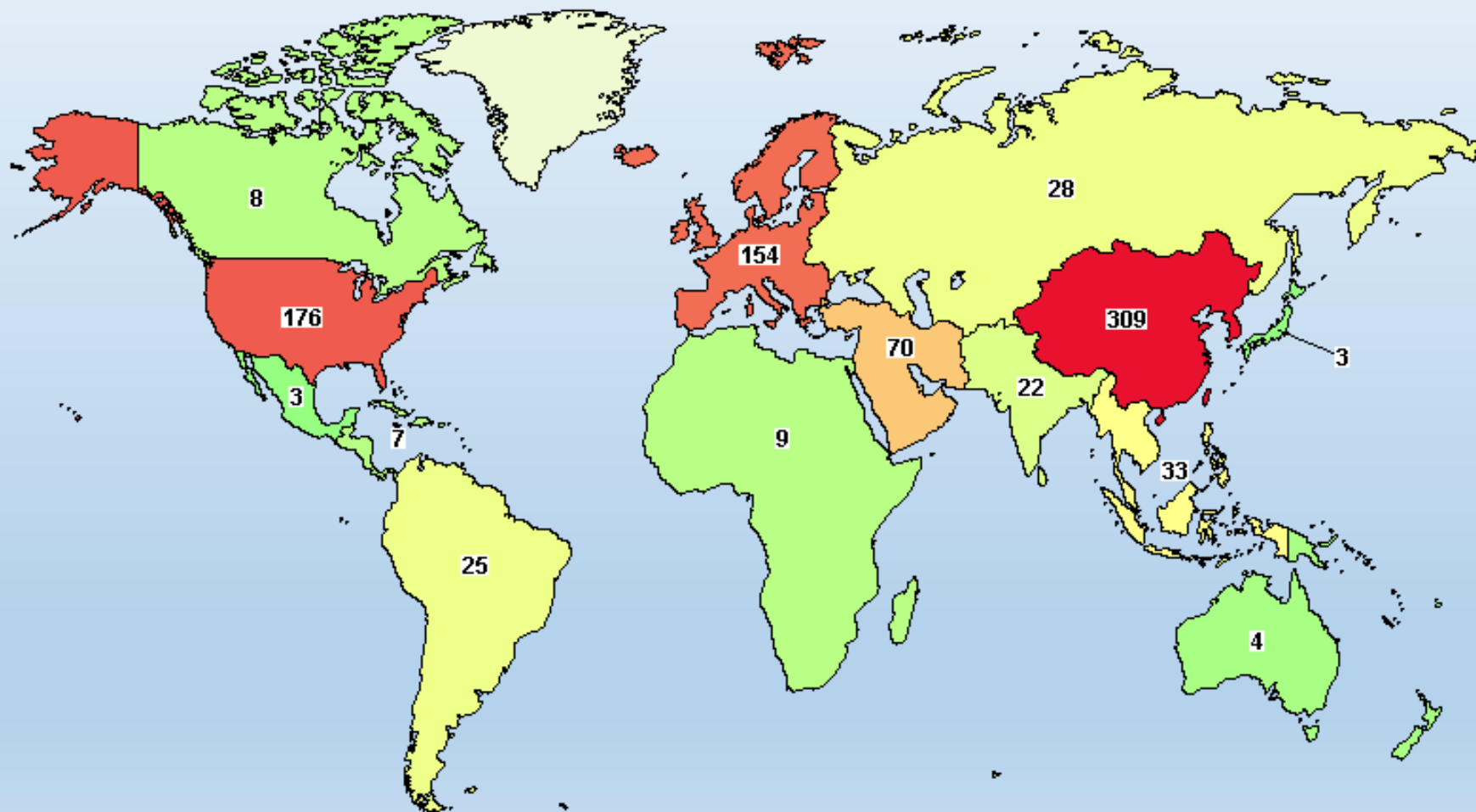
Abbreviations: AdMSC, adipose-derived mesenchymal stem cell; AT-MSC, adipose tissue-derived

**Trial clinici di fase I/II
con CSM
- pazienti arruolati-**

- Stem cell therapy for COVID--19: Possibilities and challenges
Mahmood S. Choudhery, 2020

Studi sperimentali con le CSM

922 studi sperimentali

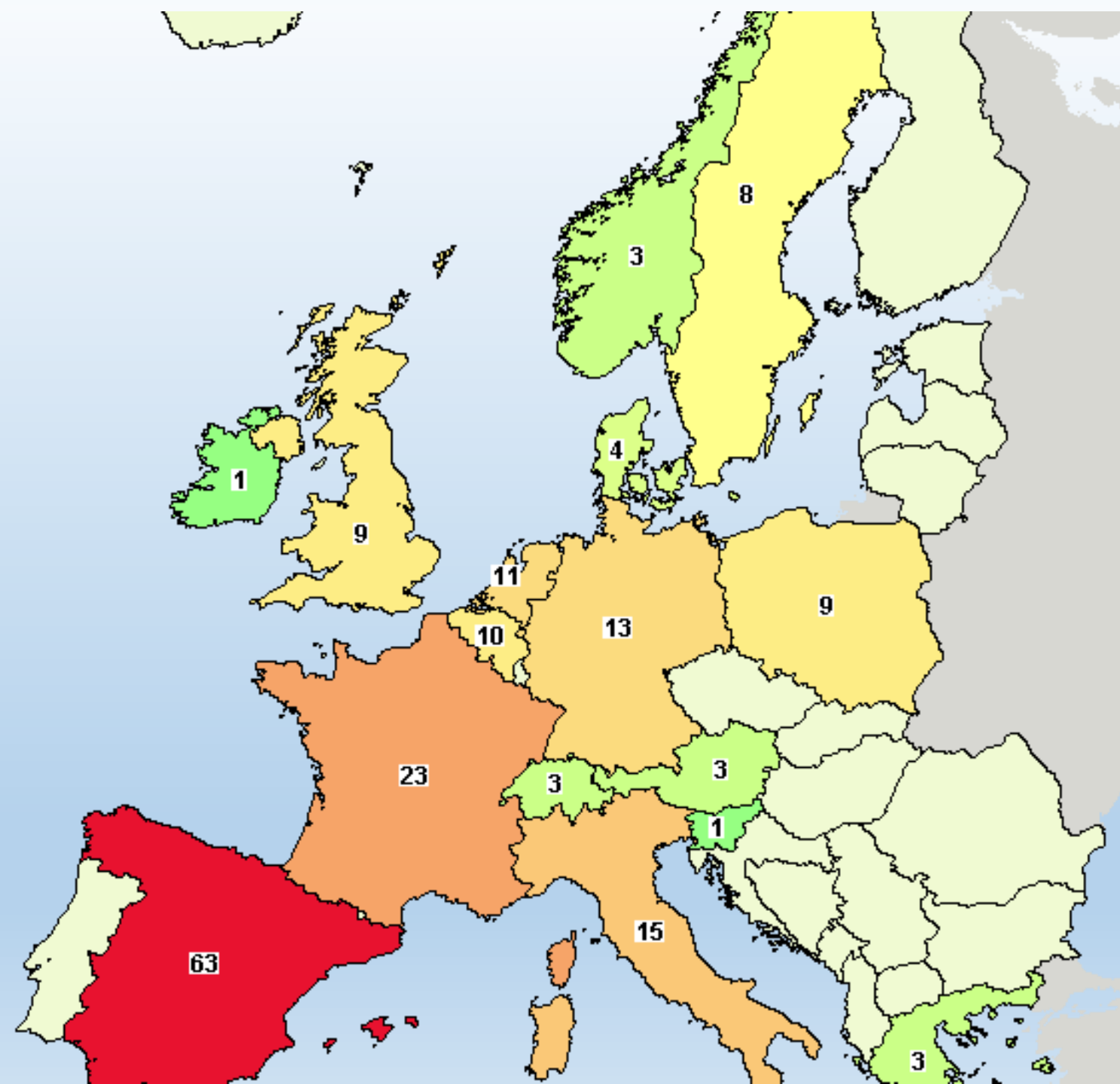


Studi sperimentali con le CSM

15 studi in Italia

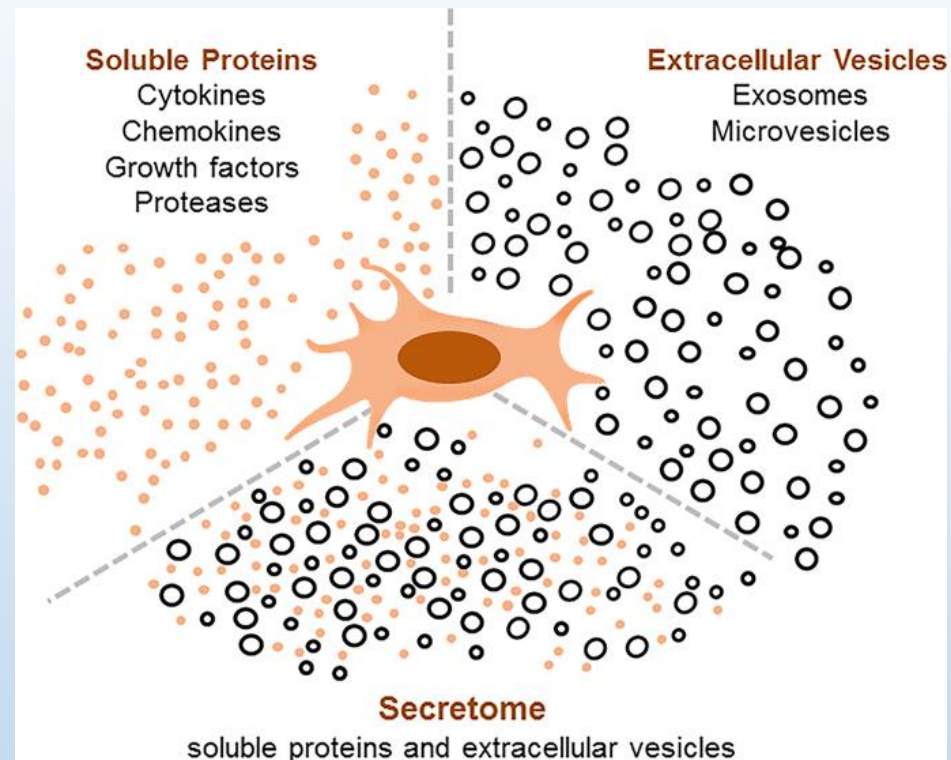
www.clinicaltrials.gov

Settembre 2020



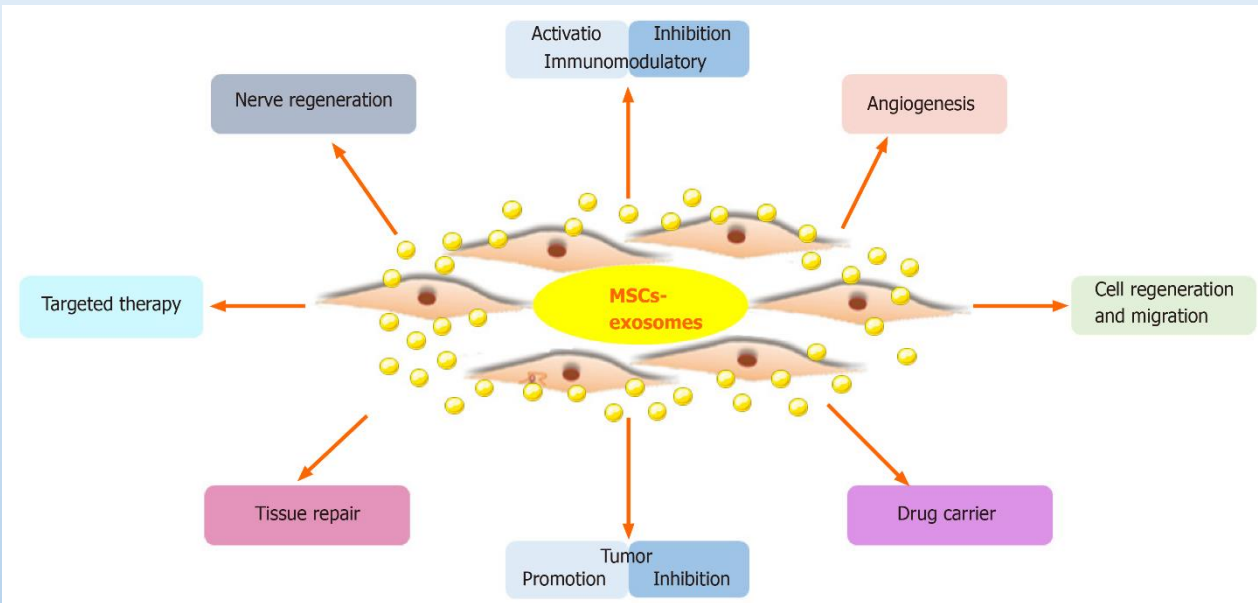
Nuove prospettive terapeutiche

Utilizzo di secretoma



Insieme di molecole solubili e vescicole extracellulari (ricco di miRNA e fattori di crescita, citochine) con attività angiogenetiche, antiinfiammatorie e immunomodulanti

Esosoma e applicazioni cliniche



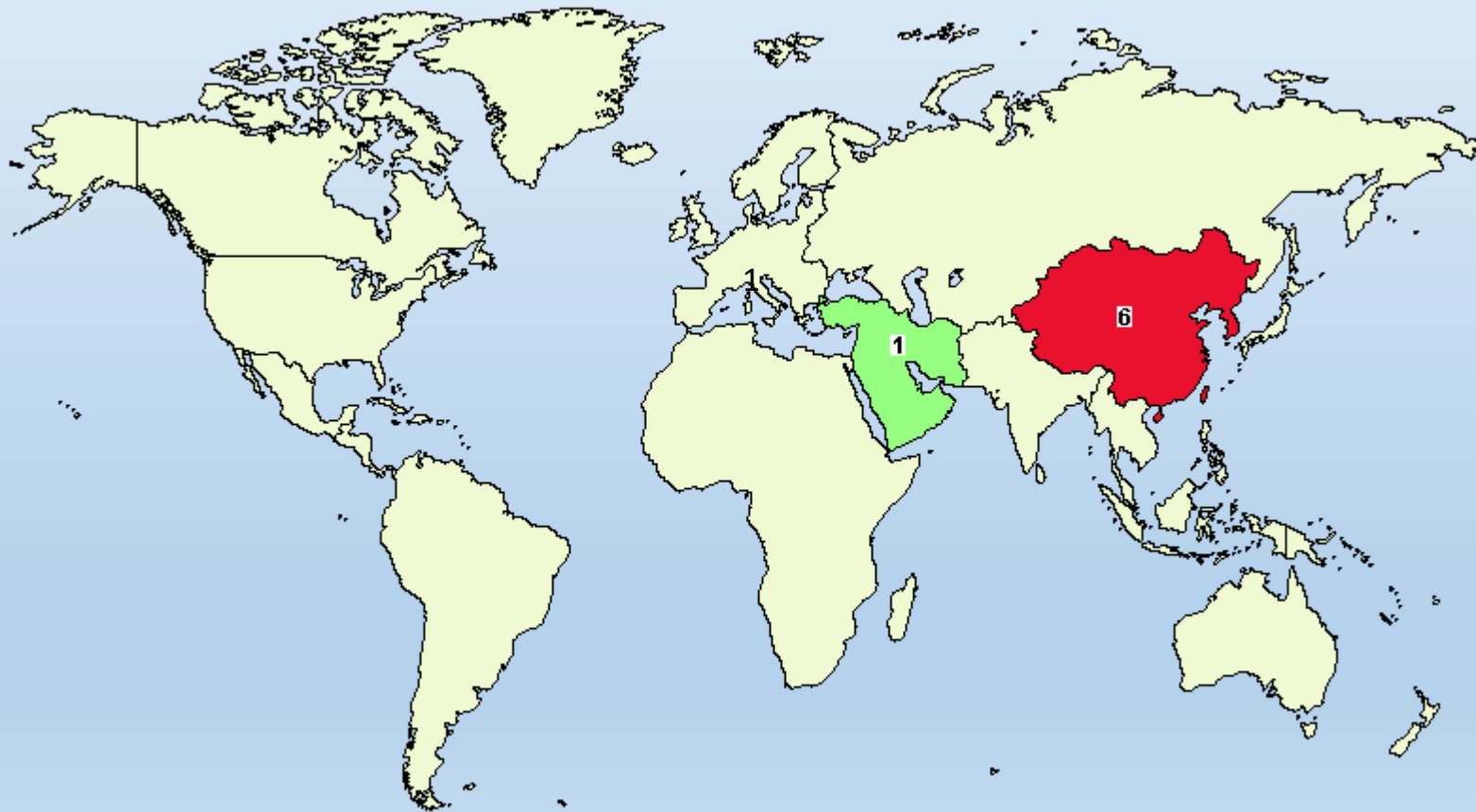
Zhan-Jun Ma et al Stem Cells 2020

Vantaggi rigenerativi del secretoma rispetto alle CSM

- **Facilità di raccolta:** Gli esosomi possono essere estratti dal terreno di coltura, mediante ultracentrifugazione o ultrafiltrazione
- **Stabilità per la conservazione a lungo termine:** il volume degli esosomi è circa un milionesimo di quello delle MSC e sono meno complessi, hanno una struttura stabile e sono facili da produrre e conservare.
- **Sicurezza:** le terapie basate su CSM hanno problemi con la sopravvivenza cellulare, la capacità rigenerativa, il rigetto immunitario e la differenziazione per i tumori. Questi problemi possono essere evitati utilizzando il **secretoma come terapia senza cellule.**
- **Il secretoma come vettore ideale:** gli esosomi possono trasferire sostanze attive nelle cellule riceventi per lo scambio di informazioni da cellula a cellula. Pertanto, gli esosomi possono essere utilizzati come vettori per farmaci e macromolecole biologiche

Studi sperimentali con il secretoma delle CSM

11 studi sperimentali
1 in Italia





Grazie per
l'attenzione

30 settembre 2020